Zur Spezifität des Nachweises der δ-Aminolävulinsäure im Harn

von

Brigitte Denkler

aus Nürnberg

1963

Aus dem Institut für gerichtliche Medizin und Kriminalistik
der Universität Erlangen-Nürnberg
Direktor: Prof. Dr. Dr. E. Weinig

Zur Spezifität des Nachweises der δ-Aminolävulinsäure im Harn

Inaugural-Dissertation
zur
Erlangung der Doktorwürde
der
Hohen Medizinischen Fakultät
der
Friedrich-Alexander-Universität
zu
Erlangen - Nürnberg

vorgelegt von
Brigitte Denkler
aus Nürnberg

Gedruckt mit Erlaubnis der Medizinischen Fakultät

der Universität Erlangen-Nürnberg

Dekan: Prof. Dr. A. Windorfer

Referent: Prof. Dr. Dr. E. Weinig

Tag der mündlichen Prüfung: 5. März 1963

Inhaltsverzeichnis

Seite

I. Allgemeiner Teil

1. Die Rolle der δ-Aminolävulinsäure bei der Synthese des roten Blutfarbstoffes 3

2. Normale und erhöhte Ausscheidung von δ-Aminolävulinsäure im Harn 4

3. Bleivergiftung 5

   a) Klinische Symptome bei der Bleivergiftung

   b) Diagnose der Bleivergiftung

   c) Die Bedeutung der δ-Aminolävulinsäure für die Diagnose der Bleivergiftung

4. Bestimmungsverfahren für δ-Aminolävulinsäure 8

5. Die Spezifität der Reaktion mit Ehrlich's Reagenz 10

   A Naturstoffe

   B Stoffwechselprodukte und körpereigene Stoffe

   C Medikamente und deren Abbauprodukte

   D Schädlingsbekämpfungsmittel und Ähnliches

6. Fehlermöglichkeiten bei der Bestimmung der δ-Aminolävulinsäure 12

   A Vortäuschung von δ-Aminolävulinsäure

   B Verdeckung von δ-Aminolävulinsäure

7. Zusammenstellung der zu prüfenden Substanzen 14

II. Experimenteller Teil

1. Methodik 16

2. Versuchsanordnung 16

A Reaktion mit Ehrlich's Reagenz

B Bestimmung der δ-Aminolävulinsäure neben der jeweiligen Substanz nach der Methode von Mauzerall u. Granick

C Verhalten der störenden Substanzen an beiden Ionenaustauschern.

3. Durchführung der Untersuchungen mit:

a) Aminosäuren 18

b) Natriumcitrat 21

c) Pyramidon 22

d) Sulfonamid 25

e) PAS 27

f) Ascorbinsäure 30

g) Phenothiazin 32

h) Indican 34

i) 5-Hydroxyindolylessigsäure 37

III. Diskussion und Zusammenfassung 40

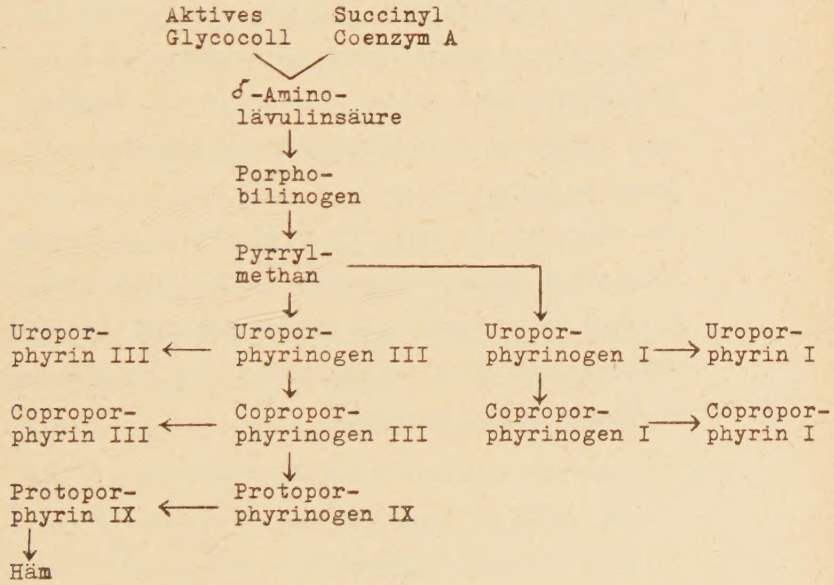
IV. Literaturverzeichnis

Zur Spezifität des Nachweises der δ-Aminolävulinsäure im Harn.

I. Allgemeiner Teil

1. Die Rolle der δ-Aminolävulinsäure bei der Synthese des roten Blutfarbstoffes

Die δ-Aminolävulinsäure ist ein wichtiges Zwischenglied bei der Synthese des roten Blutfarbstoffes:



(Die verschiedenen Stufen der Bioxynthese des roten Blutfarbstoffes)

Bei manchen Krankheitsbildern ist die Synthese des Porphobilinogens aus δ-Aminolävulinsäure gestört. Es findet sich dann vermehr δ-Aminolävulinsäure im Harn.

2. Normale und erhöhte Ausscheidung von δ-Aminolävulinsäure im Harn.

Schon beim gesunden Menschen findet sich eine geringe Ausscheidung von δ-Aminolävulinsäure. Der Mittelwert liegt bei 2130γ pro Tag (Stich).
Zu einer erhöhten Ausscheidung der δ-Aminolävulinsäure kommt es nach Haeger-Aronsen bei der akuten Porphyrie. Heilmeyer u. Clotten fanden auch bei verschiedenen Anämieformen (Eisenmangelanämien, Atransferrinämie und sideroachrestische Anämien) eine vermehrte Ausscheidung von δ-Aminolävulinsäure im Harn.
Die häufigste Ursache für eine erhöhte Ausscheidung von δ-Aminolävulinsäure dürfte die Bleivergiftung sein. Damit sind Untersuchungen über die Ausscheidung der δ-Aminolävulinsäure und ihre Beforenzische Toxicologie.

3. Bleivergiftung

a) Klinische Symptome bei der Bleivergiftung:

Das klinische Bild der schweren Bleivergiftung, wie es sich in polyneuritischen Lähmungen, Arthralgien, Encephalopathie, Schrumpfniere, Bleisaum an den Zähnen, Kachexie u.a. äußert, findet sich infolge des Fortschrittes der Gewerbehygiene auf Grund medizinischer und technischer Prophylaxe heute nur noch sehr selten (Lachnit). An seine Stelle tritt ein anderes Bild mit einer breiten Skala unspezifischer Symptome wie Müdigkeit, Appetitlosigkeit, Cephalgie, Polyneuritis u.s.w. Diese versteckte Ätiologie gibt häufig zu Fehldiagnosen wie Gastritis, Gastroenteritis, Ulcus ventriculi et duodeni, Cholecystopathie, Hepatitis, Hepatopancreatitis, Colitis, Appendicitis, Verdacht auf Malignom, Anämie, Porphyrie, Hysterie, "Nervenzusammenbruch", Hirntumor, alkoholische und postinfektiöse Polyneuritis und damit zu nicht causaler Therapie Anlaß (Borbély). Deshalb wird die beginnende Bleivergiftung sehr selten in ihrem Anfangs-

stadium erfaßt, obwohl sie auch heute noch durch die vielseitige Anwendung des Bleis zu einer der häufigsten gewerblichen Vergiftungen gehört (Lachnit). Daher ist das Interesse an einer möglichst spezifischen Frühdiagnose verständlich.

b) Diagnose der Bleivergiftung:

Ganz allgemein gilt ein erhöhter Bleispiegel im Blut und im Harn als frühestes Zeichen einer erhöhten Bleiresorption. Die Ansichten über den Wert des Blut- und Harnbleispiegels, der bereits eine Bleivergiftung anzeigt, sind nicht einheitlich. Das liegt zum Teil an der Methodik (Dithizonmethode in verschiedenen Varianten, Spektrographie, Polarographie). Vergleiche hierzu Litzner,Portheine, Kehoe,Seifert,Tillmann,Weinig et al.,Vigliani, Schrader und Hoschek, die einen Wert zwischen 40 und 100 γ % Blei im Blut als obere Grenze der Norm angeben. Daraus ergibt sich, daß es einen scharfen Grenzwert des Bleispiegels, der sicher eine Bleivergiftung anzeigen würde, offenbar nicht gibt. Erst erhöhte Porphyrinausscheidung, grobzellige Tüpfelung der Erythrocyten und eine hohe Bleikonzentration in Blut und Harn konnten bisher die Diagnose "Bleivergiftung" weitgehend, wenn auch nicht völlig, sichern (Haeger-Aronsen).

c) Die Bedeutung der δ-Aminolävulinsäure für die Diagnose der Bleivergiftung:

Als erste fand Haeger bei einem großen Prozentsatz (ca. 65 %) von Bleiarbeitern, die weder klinische noch subklinische Zeichen einer erhöhten Bleiresorption aufwiesen, eine deutlich vermehrte Ausscheidung von δ-Aminolävulinsäure im Urin. Die Porphobilinogenkonzentration war bei keinem der Fälle erhöht. Weitere Untersuchungen sicherten die erhöhte Ausscheidung von δ-Aminolävulinsäure im Urin bei Bleivergiftung. Ihre Befunde wurden später von Griggs u. Harris und Schwartz, in Deutschland in letzter Zeit von Stich bestätigt. Stich fand schon beim Gesunden eine geringe Ausscheidung von δ-Aminolävulinsäure im Urin (Mittelwert: 2130± 415γ δ-Aminolävulinsäure/Tag; das sind rund 1,5γ δ-Aminolävulinsäure/cm^3 Urin). Die δ-Aminolävulinsäurewerte bei der Bleivergiftung zeigten den fast 50-fachen Wert der Norm, während Porphobilinogen nicht vermehrt war. Auch bei Bleiarbeitern, die einen Blutbleispiegel von 30γ % bis maximal 180γ % aufwiesen, konnte er bei 64% der Untersuchten eine deutlich erhöhte Ausscheidung von δ-Aminolävulinsäure im Urin feststellen. Die Porphobilinogenwerte waren mit Ausnahme eines Falles normal.

Durch zahlreiche Vergleichsuntersuchungen konnten Stich und Haeger-Aronsen weiterhin feststellen, daß es bei den verschiedensten Krankheiten, insbesonders Blut-, Leber- und Stoffwechselerkrankungen, sowie bei Barbituratvergiftung (4 Fälle), und Vergiftung mit Antabus und Amanita virosa (je 1 Fall), mit Ausnahme der akuten Porphyrie, nicht zu einer vermehrten Ausscheidung von δ-Aminolävulinsäure im Harn kommt. Aber auch die akute Porphyrie kann biochemisch von der Bleivergiftung differenziert werden, da hier neben δ-Aminolävulinsäure beträchtliche Mengen von Porphobilinogen ausgeschieden werden.
Somit ist die Bleivergiftung die wichtigste Erkrankung, welche sich durch eine alleinige vermehrte Ausscheidung von δ-Aminolavulinsaure auszeichnet. Es handelt sich also um ein spezifisches Symptom, welches ein neues biochemisches Kriterium der Bleivergiftung darstellt und besonders geeignet erscheint, gerade die beginnende Bleivergiftung sicher anzuzeigen.

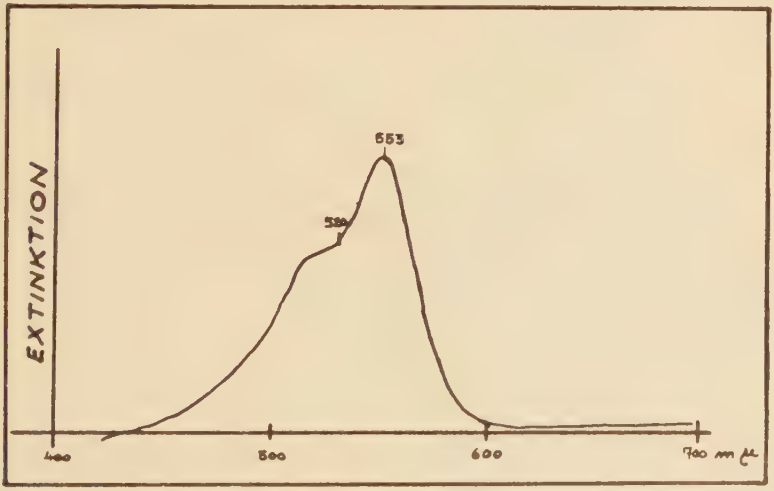
4. Bestimmungsverfahren für δ-Aminolavulinsaure:

Die Bestimmung der δ-Aminolavulinsaure erfolgte bei den genannten Autoren nach der von Mauzerall u. Granick angegebenen Methode: Umwandlung der δ-Aminolavulinsaure, welche zu den Aminoketonen gehört, in ein Pyrrol durch Kondensation mit einem anderen

Keton, wie Acetylaceton oder Äthylacetonacetat. Das so gebildete Pyrrol bildet mit p-Dimethylamino-benzaldehyd in saurer Lösung (=Ehrlich's Reagenz) einen roten Farbstoff, welcher spektrophotometrisch bestimmt werden kann.

Abb.1:

Absorptionskurve des nach der Methode von Mauzerall u. Granick aus der δ-Aminolävulinsäure entstandenen Pyrrols, aufgezeichnet mit einem selbstregistrierenden Spektralphotometer -Modell DK-2:



Die Absorptionskurve zeigt ein ausgepragtes Maximum bei 553mμ und eine Schulter bei 520mμ.

5. Die Spezifität der Reaktion mit Ehrlich's Reagenz:

Farbreaktionen mit Ehrlich's Reagenz sind in der Literatur außerordentlich häufig beschrieben worden. (z.B. Hais Macek,Dalgliesh,Schmidt,Siedel) Die folgende Übersicht gibt einen kurzen Überblick mit Beispielen aus jeder aufgeführten Gruppe.

A Naturstoffe:

Ureidoaminosäuren, manche Dicarbonsäuren -darunter Aconit-, Wein-, Zitronensäure -, Aromatische Amine, Aromatische Aldehyde, Steroidsäuren, Azulene, Proazulene.

B Stoffwechselprodukte und körpereigene Stoffe:

Harnstoff, Citrullin, Aminozucker, manche Aminosäuren - darunter Cystin, Glycocoll, Leucin, Tryptophan -, p-Aminobenzoesäure, Arterenol, Indole - darunter 5-Hydroxyindolylessigsäure, Indolyl-3-essigsäure -, Indikan, Mesaconsäure, Nicotinsäureamid, Urobilinogen, Stercobilinogen, Porphyrine.

C Medikamente und deren Abbauprodukte:

Alkaloide - Apomorphin, Brucin, Gynergen, Hydergin, Methergin, Parthergin, Secacornin -, Lokalanästhetica - Anästhesin, Larocain, Novocain, Novocainamid, Pantocain -, Weckamine und ähnliche Substanzen - Benzedrin, Cafilon, Cardiazol, Coramin (=Nikotinsäure),

Effortil, Lobelin, Preludin, Suprifen, Sympatol, Veritol -, Purinderivate - Coffein -, Phenothiazinkörper - Dibutil, Latibon, Megaphen, Decentan, Verophen -, Acridinderivate - Rivanol, Trypotoflavin -, Antipyretika und deren Abbauprodukte - Acetanilid, Antipyrin, Novalgin, Phenacetin, Paraaminophenol, Pyramidon, 4-Acetaminoantipyrin (aus Pyramidon), 4-Aminoantipyrin (aus Pyramidon), 4-Oxyantipyrin (aus Pyramidon) -, Barbiturate und deren Abbauprodukte - Eldoral, Eunarcon, 5,5-Acetonylisopropylbarbitursäure (aus Eunarcon), Evipan, Numal, Acetonyl-sek-butylbarbitursäure (aus Pernocton) -, Thiobarbiturate - 3-4 nicht näher bezeichnete Stoffwechselprodukte aus Baytynal -, weitere Schlafmittel und deren Abbauprodukte - Valamin, Hydroxyvalamin (aus Valamin) -, Sulfonamide - Albucid, Amidan, Badional, Cibazol, Diamox, Eleudron, Gantrisin, Gombardol, Supronal, Taleudron -, Tuberkulostatika - Hydrazide (INH), PAS -, Antibiotika -Aureomycin, Tetracyclin, Chloramphenicol und ähnliche Substanzen -, Verschiedenes - Plasmochin, k-Strophantin.

D Schädlingsbekämpfungsmittel und Ähnliches:

E 605, verschiedene aromatische Nitroverbindungen, Zephirol.

6. Fehlermöglichkeiten bei der Bestimmung der δ-Aminolävulinsäure:

Unter all diesen Stoffen findet sich eine große Anzahl, welche mit dem Harn ausgeschieden werden:

a) Physiologische Stoffwechselprodukte.

b) Stoffwechselprodukte, die in unphysiologischer Weise bei den verschiedensten Erkrankungen mit dem Harn ausgeschieden werden.

c) Medikamente, die in unveränderter Form im Harn erscheinen.

d) Abbauprodukte von Medikamenten und Früchten.

Es muß deshalb geprüft werden, ob derartige Substanzen, die von Mauzerall u. Granick beschriebene Methode zur Bestimmung von δ-Aminolävulinsäure stören, wobei zwei Möglichkeiten gegeben erscheinen:

A Vortäuschung von δ-Aminolävulinsäure:

δ-Aminolävulinsäure kann vorgetäuscht und damit die Fehldiagnose Bleivergiftung nahegelegt werden: Die Farbreaktion nach Mauzerall u. Granick ist nicht streng spezifisch für δ-Aminolävulinsäure. Schon Schuster berichtet über eine positive Farbreaktion unter ähnlichen Bedingungen z.B. mit α-Monoäthylester der α-Amino-ß-oxyadipinsäure, Methyl-aminolävulinsäure, Glucosamin-

hydrochlorid und verschiedenen Derivaten der Lävulinsäure, während Brenztraubensäure, Glutaminsäure, Bernsteinsäure, Glucose und Glycocoll in Mengen von 0,5-2mg nicht stören. Mauzerall u. Granick fanden, daß unter ihren Bedingungen 0,3mg/cm^3 Glucosamin, 2mg/cm^3 Ammoniak und 2mg/cm^3 Glycocoll praktisch ohne Einfluß waren. Dagegen gibt Mesobilirubinogen, das bei dem genannten Verfahren vom Ionenaustauscher Dowex 2 absorbiert wird, eine positive Farbreaktion. Bei der Vielzahl von Stoffen, die außerdem auch eine positive Farbreaktion mit Ehrlich's Reagenz geben, wäre es denkbar, daß ein Patient mit unklaren Beschwerden, wie sie unter anderem auch bei der beginnenden Bleivergiftung zu finden sind, mit einem der in Frage kommenden Medikamente behandelt wird, so daß bei einer darauffolgenden Bestimmung von δ-Aminolävulinsäure eine scheinbare Vermehrung derselben festgestellt wird. Hier kann eine papierchromatographische Prüfung auf δ-Aminolävulinsäure zur Sicherung beitragen.

B Verdeckung von δ-Aminolävulinsäure:

δ-Aminolävulinsäure wird verdeckt und damit eine beginnende Bleivergiftung übersehen:

Die Bestimmung der δ-Aminolävulinsäure im Harn

könnte durch verschiedene Substanzen gestört werden, wodurch eine beginnende Bleivergiftung übersehen werden kann.

Eine Hemmung der Farbentwicklung zwischen Porphobilinogen und Ehrlich's-Reagenz wird z.B. durch Harnstoff verursacht (Prunty), der allerdings in dem Verfahren von Mauzerall u. Granick vorher eliminiert wird. Den gleichen hemmenden Einfluß zeigt Ascorbinsäure (Prunty).

Andererseits ist eine Unterdrückung der Farbreaktion zwischen dem aus den durch Kondensation mit Acetylaceton und δ-Aminolävulinsäure gebildeten Pyrrol mit Ehrlich's-Reagenz in Gegenwart anderer, gleichfalls mit p-Dimethylaminobenzaldehyd reagierender Substanzen, nach den Untersuchungen von Treibs und Herrmann durch die Bildung von farblosen Dipyrrylphenylmethanen denkbar.

7. Zusammenstellung der zu prüfenden Substanzen:

Aus der großen Gruppe der mit Ehrlich's Reagenz eine Farbreaktion gebenden Verbindungen untersuchten wir die folgenden:

Tryptophan

Pyramidon, Aristamid, PAS

Indikan, 5-Hydroxyindolylessigsäure

Außerdem prüften wir noch einige Substanzen, welche keine Farbreaktion mit Ehrlich's Reagenz geben, welche

aber zur Therapie der Bleivergiftung oder bei der Behandlung der sie begleitenden Nebensymptome zur Anwendung kommen könnten:

Citrat

Vitamin C (=Ascorbinsäure)

Omca

Schließlich prüften wir von den bei der Bleivergiftung im Harn vermehrt auftretenden Aminosäuren die

ß-Aminoisobuttersäure.

Haeger-Aronsen hatte bereits $CaNa_2$-EDTA (=Mosatil) und Penicillamine geprüft und gefunden, daß diese Substanzen die Bestimmung der δ-Aminolävulinsäure nicht störten.

Unsere eigenen Untersuchungen werden im experimentellen Teil der Arbeit behandelt. Dabei wurde die Menge der zu untersuchenden Substanz stets so gewählt, daß sie der zu erwartenden Konzentration im Harn bei der üblichen Dosierung oder bei pathologischen Zuständen entsprach.

II. Experimenteller Teil

1. Methodik:

Die Bestimmung der δ-Aminolävulinsäure erfolgte nach der von Mauzerall u. Granick ausgearbeiteten Methode:

Der vorbereitete Ionenaustauscher Dowex 2 wird mit Urin beschickt und mit destilliertem Wasser nachgewaschen. (Porphobilinogen wird von Dowex 2 absorbiert.) Das gesammelte Eluat von Dowex 2 wird auf den vorbereiteten Ionenaustauscher Dowex 50 gegeben. Dieser wird mit destilliertem Wasser solange nachgewaschen, bis das Eluat völlig frei von Harnstoff ist. Darauf wird die von Dowex 50 festgehaltene δ-Aminolävulinsäure mittels Natriumacetatlösung eluiert. Die Eluate werden im siedenden Wasserbad mit Acetylaceton erhitzt und mit Ehrlich's Reagenz versetzt. Die auftretende Rotfärbung wird durch Messung der Extinktion bei 553mμ im Spektralphotometer quantitativ bestimmt.

2. Versuchsanordnung:

Unsere Versuche wurden in folgender Weise durchgeführt:

A Reaktion mit Ehrlich's Reagenz:

a) Reaktion der zu prüfenden Substanz mit Ehrlich's Reagenz.

b) Reaktion der zu prüfenden Substanz mit Ehrlich's Reagenz nach Erhitzen mit Acetylaceton.

3 Bestimmung der δ-Aminolävulinsäure neben der jeweiligen Substanz nach der Methode von Mauzerall u. Granick, wobei die Versuche mit folgenden beiden Ansätzen durchgeführt wurden:

a) 40γ δ-Aminolävulinsäure in 2cm^3 Wasser.

b) 40γ δ-Aminolävulinsäure in 1cm^3 Wasser und jeweilige Substanz in 1cm^3 Wasser.

Neben der üblichen spektrophotometrisch-quantitativen Bestimmung wurden auch die Absorptionskurven mit einem selbstregistrierenden Spektralphotometer "Modell DK-2" aufgenommen.

) Verhalten der störenden Substanzen an beiden Ionenaustauschern:

Wenn sich bei der unter B genannten Versuchsanordnung eine Störung der δ-Aminolävulinsäurebestimmung bemerkbar machte, wurde der Versuch wiederholt, wobei jetzt der gesamte von Mauzerall u. Granick vorgeschriebene Arbeitsgang mit Passage der dort verwendeten Ionenaustauscher durchgeführt wurde.

3. Durchführung der Untersuchungen mit:

a) Aminosäuren:

Viele Aminosäuren werden schon physiologischerweise im Harn ausgeschieden. Zu einer Vermehrung der Aminosäureausscheidung kommt es bei einer großen Anzahl von Erkrankungen. Für die besprochene Frage besonders wichtig ist die

Aminoacidurie bei Schwermetallarbeitern:

Nach Clarkson und Kench bestand bei Schwermetallarbeitern (Blei, Quecksilber, Uran, Cadmium), die kein klinisches Zeichen einer Nierenerkrankung aufwiesen, eine Aminoacidurie. Dabei bewirkten Cadmium und Uran im Gesamtharnaminostickstoffspiegel und im Aminosäuremuster weit stärkere Veränderungen als Blei und Quecksilber, wobei z.B. die Urinkonzentrationen der Hydroxysäuren Threonin und Serin besonders stark erhöht waren. Eine relative Erhöhung von Alanin wurde in fünf von fünfzehn bleihaltigen Urinen gefunden, Glycocoll war in drei von sechs quecksilberhaltigen Harnen vermehrt.
In vielen Fällen von Bleivergiftung bestand eine erhöhte Ausscheidung der β-Aminoisobuttersäure (Wilson et al., Bickel et al., Chisolm et al.), die allerdings die extrem hohen Ausscheidungswerte, die

bei chronisch-myeloischer Leukämie gefunden wurden (30 Milli-Mol/Liter Urin = 3-4mg/cm^3: Fink et al.), nicht erreichten.

Bei mehreren Schwermetallarbeitern wurde u.a. Tryptophan vermehrt angetroffen (Dagliesh), das mit Ehrlich's Reagenz unter bestimmten Bedingungen eine Farbreaktion liefert.

Eigene Versuche:

Von den genannten Aminosäuren prüften wir ß-Aminoisobuttersäure und Tryptophan:

1) ß-Aminoisobuttersäure:

Durchführung der Versuche mit 2mg ß-Aminoisobuttersäure/cm^3, was einer Tagesausscheidung von etwa 3g entspricht.

A Reaktion mit Ehrlich's Reagenz:

a) ß-Aminoisobuttersäure + Ehrlich's Reagenz:
Keine Verfärbung, kein Niederschlag.

b) ß-Aminoisobuttersäure + Acetylaceton + Ehrlich's Reagenz:
Keine Verfärbung, kein Niederschlag.

B Bestimmung der δ-Aminolävulinsäure neben ß-Aminoisobuttersäure:

In den beiden Ansätzen ergab sich kein Extinktionsunterschied bei 553mμ. Die Absorptionskurve der δ-Aminolävulinsäure wird durch den Zusatz der

ß-Aminoisobuttersäure nicht verändert. Die Absorptionskurve zeigte bei beiden Ansätzen völlig gleichartigen Verlauf.

ß) Tryptophan:

Die zu den Versuchen eingesetzte Tryptophanmenge wurde in der folgenden Weise berechnet: Der Mittelwert aller der in den Tabellen von Clarkson und Kench aufgeführten Höchstwerte für die Tryptophanausscheidung bei Schwermetallarbeitern, angegeben in mg Aminostickstoff/g Kreatinin, wurde unter Annahme einer Kreatininausscheidung von 0,5g/Tag (Wissenschaftliche Tabellen Geigy) in die ausgeschiedene Tagesmenge umgerechnet. Hierbei ergab sich eine Tagesausscheidung von 45mg Tryptophan, was $30\gamma/cm^3$ entspricht.

A Reaktion mit Ehrlich's Reagenz:

a) Tryptophan + Ehrlich's Reagenz:
Keine Verfärbung, kein Niederschlag.

b) Tryptophan + Acetylaceton + Ehrlich's Reagenz:
Keine Verfärbung, kein Niederschlag.

B Bestimmung der δ-Aminolävulinsäure neben Tryptophan:

In den beiden Ansätzen ergab sich kein Extinktionsunterschied bei 553mμ. Die Absorptionskurve der δ-Aminolävulinsäure wird durch den Zusatz von Tryptophan nicht verändert. Die Absorptionskurve zeigte bei beiden Ansätzen völlig gleichartigen Verlauf.

b) Natriumcitrat:

Stoffwechsel:

Zitronensäure wird schon beim normalen Individuum im Harn ausgeschieden. Die Ausscheidung wird mit etwa 0,5-1,8g/Tag angegeben (Kissin et al., Taupitz et al. Wissenschaftliche Tabellen Geigy).

Zu einer erhöhten Ausscheidung der Zitronensäure kommt es in der Hauptsache bei

a) Zuführung von Citrat oder von Zitronensäure-vorläufern aus der Dicarbonsäurereihe wie Bernsteinsäure, Fumarsäure und Äpfelsäure.

b) Alkalose. Die Ausscheidung der Zitronensäure ändert sich hier direkt mit dem p_H-Wert des Harnes (Shorr et al.).

Indikation:

Als Therapie bei der chronischen Bleivergiftung (Moeschlin).

Dosierung:

4x5 g Natriumcitrat täglich per os während 1-2 Monaten (Moeschlin).

Eigene Versuche:

Unter Annahme einer Tagesdosis von ca 20g und einer ziemlich hohen Ausscheidung (etwa 2g/Tag) wurden die Versuche mit je 1 cm^3 einer Zitronensäure-lösung, die 1300 γ/cm^3 enthielt, durchgeführt.

A Reaktion mit Ehrlich's Reagenz:

a) Zitronensäure + Ehrlich's Reagenz:

Keine Verfärbung, kein Niederschlag.

b) Zitronensäure + Acetylaceton + Ehrlich's Reagenz:

Keine Verfärbung, kein Niederschlag.

B Bestimmung der δ-Aminolävulinsäure neben Zitronensäure:

In den beiden Ansätzen ergab sich kein Extinktionsunterschied bei 553mμ. Die Absorptionskurve der δ-Aminolävulinsäure wird durch den Zusatz der Zitronensäure nicht verändert. Die Absorptionskurve zeigte bei beiden Ansätzen völlig gleichartigen Verlauf.

c) Pyramidon:

(= Dimethylaminophenyldimethylpyrazolon)

Stoffwechsel:

Pyramidon wird in therapeutischen Dosen beim Menschen fast vollständig abgebaut. Nur ca 3% werden davon unverändert ausgeschieden (Williams).
Die wesentlichsten physiologischen Abbauprodukte im Harn sind neben Rubazonsäure und Antipyrilharnstoff das 4-Aminoantipyrin (1-Phenyl-2, 3-dimethyl-4-aminopyrazolon) und dessen 4-Acetylderivat (Halberkann et al.). Ungefähr die Hälfte einer 0,5g-Dosis Pyramidon werden innerhalb von drei Tagen

als 4-Aminoantipyrin und als dessen Acetylderivat im Harn ausgeschieden (Williams).

Indikation:

Neuralgien, Migräne, Menstruationsbeschwerden, Poliomyelitis, Gelenk- und Muskelrheumatismus, Tuberculose, Typhus, Fieber (Rote Liste).

Dosierung:

2-3mal täglich 0,3g. Bei Polyarthritis und Poliomyelitis wird es nach Moeschlin in recht hohen Dosierungen verwendet, d.h. beim Erwachsenen bis zu 4-6g täglich.

Eigene Versuche:

Von den Stoffwechselproduktendes Pyramidons wurde 4-Aminoantipyrin geprüft, das im Papierchromatogramm mit Ehrlich's Reagenz eine gelbe Reaktionsstelle liefert (Schmidt). Daneben ist bekannt, daß 4-Aminoantipyrin mit p-Dimethylaminobenzaldehyd, bzw. Dimethylaminophenylpentadienal einen tiefroten, bzw. blauvioletten Farbstoff bildet (Strell et al.). Bei einer Dosierung von 6g/Tag über längere Zeit kann mit einer Ausscheidung von rund 3g 4-Aminoantipyrin/Tag gerechnet werden, was bei einer Tagesharnmenge von 1500cm^3 etwa 2mg/cm^3 Harn entspricht.

A Reaktion mit Ehrlich's Reagenz:

a) 4-Aminoantipyrin + Ehrlich's Reagenz:
Zitronengelbe Verfärbung mit einem Maximum der Absorptionskurve bei 430mμ. Kein Niederschlag.

b) 4-Aminoantipyrin + Acetylaceton + Ehrlich's Reagenz:
Zitronengelbe Verfärbung mit einem Maximum der Absorptionskurve bei 430mμ. Kein Niederschlag.

B Bestimmung der δ-Aminolävulinsäure neben 4-Aminoantipyrin:

In beiden Ansätzen ergab sich kein Extinktionsunterschied bei 553mμ. Die Absorptionskurve der Reaktionslösung (Ab) im Zusatzversuch zeigte die Maxima 555mμ(δ-Aminolävulinsäure) und 430mμ (4-Aminoantipyrin). Zusätzlich fand sich ein schwächerer Gipfel mit einem Maximum bei 380mμ.

C Verhalten der störenden Substanzen an beiden Ionenaustauschern:

4-Aminoantipyrin passiert Dowex 2 ohne Absorption. Unter den angegebenen Bedingungen wird es anschließend von Dowex 50 völlig absorbiert, jedoch teilweise zusammen mit der δ-Aminolävulinsäure wieder eluiert. (Prüfung der Eluate mit Ehrlich's Reagenz.)

d) Sulfonamid:

Aus der großen Gruppe der Sulfonamide wurde Aristamid (6-(sulfanilamido)-2, 4-dimethyl-Pyrimidin) ausgewählt.

Stoffwechsel:

Aristamid (Sulphadimetine) wird beim Menschen nur wenig acetyliert. Es werden nach Applikation in jeglicher Form 80-90% unverändert und nur ungefähr 13% acetyliert im Urin ausgeschieden (Prior et al.).

Indikation:

Bacterielle Infektionen (Pneumonie, Bronchitis, Meningitis, Sepsis, Cystopyelitis, Peritonitis, Pleuraempyem), insbes. Coli-Infektionen, grippale Komplikationen (Rote Liste).

Dosierung:

Erwachsene 2-4g zu Beginn der Behandlung, weiter in 4-6 stündigen Abständen 1-2g, je nach Schwere der Krankheit (Rote Liste).

Eigene Versuche:

In der Annahme, daß bei einer Dosierung von etwa 8g/Tag 80% unverändert in der Tagesharnmenge ausgeschieden werden, wurden die Versuche mit 4mg Aristamid/cm^3 durchgeführt, was einer Tagesausscheidung von ca 6g entspricht.

A Reaktion mit Ehrlich's Reagenz:

a) Aristamid + Ehrlich's Reagenz:
Gelbfärbung mit einem ausgeprägten Maximum der Absorptionskurve bei 450mμ, zwei kleineren Maxima bei 365 und 320 mμ, und einem Minimum bei 390mμ. Kein Niederschlag.

b) Aristamid + Acetylaceton + Ehrlich's Reagenz:
Gelbfärbung mit einem ausgeprägten Maximum der Absorptionskurve bei 455mμ, einem kleineren Maximum bei 375mμ und einem Minimum bei 395mμ. Kein Niederschlag.

B Bestimmung der δ-Aminolävulinsäure neben Aristamid:

In den beiden Ansätzen ergab sich kein Extinktionsunterschied bei 553mμ. Die Absorptionskurve der Reaktionslösung (Ab) zeigte die Maxima 555mμ (δ-Aminolävulinsäure) und 455mμ (Aristamid).

C Verhalten der störenden Substanzen an beiden Ionenaustauschern:

Durch Versuche am Ionenaustauscher Dowex 2 zeigte es sich, daß Aristamid in der eingesetzten Menge von Dowex 2 absorbiert wird. (Prüfung der Eluate mit Ehrlich's Reagenz.)

e) PAS (=Paraaminosalicylsäure):

Stoffwechsel:

Beim Menschen wird PAS sehr rasch und vollständig resorbiert. Ungefähr 85% einer oralen Dosis von 10g werden innerhalb von 10 Stunden ausgeschieden (Williams). Nach Way et al. enthalten drei der ausgeschiedenen Verbindungen eine freie Aminogruppe und zwei eine acetylierte Aminogruppe. Zwei der Verbindungen mit freier Aminogruppe wurden als unveränderte Paraaminosalicylsäure und Paraaminosalicylharnsäure identifiziert, und eine der acetylierten Verbindungen als Paraacetamidosalicylsäure. In geringer Menge wird auch ein Kupplungsprodukt mit Glycocoll ausgeschieden (Way et al.). Daneben fanden Kawamata und Kashiwagi beim Menschen wenig Paraacetamidoicylglucuronid und Paraaminosalicylglutamin.

Indikation:

Chemotherapie der Tuberculose (Rote Liste).

Dosierung:

8-12g/Tag (Rote Liste).

Nachweismethode mit Ehrlich's Reagenz:

PAS und Ehrlich's Reagenz ergeben eine dunkelrote Verfärbung und einen roten Niederschlag. Hierauf baute Lepehne eine einfache Nachweismethode für PAS im Harn auf.

Eigene Versuche:

Durchführung der Versuche mit

a) dem Verdampfungsrückstand eines weinsauren Harnextraktes eines Tuberculösen, der mit PAS-Cilag behandelt wurde. Aus 50cm^3 Harn wurden ca 538mg PAS, bzw. saure Derivate extrahiert, d.h. rund 10mg/cm^3 Harn. Davon wurden 5mg in 1cm^3 Wasser gelöst. (Zur besseren Löslichkeit wurde NaOH hinzugefügt; es konnte nicht mehr als 5mg/cm^3 gelöst werden, da durch weitere Zugabe von NaOH der p_h-Wert von 7 überschritten worden wäre).

b) Harn des gleichen Patienten.

A Reaktion mit Ehrlich's Reagenz:

a) Verdampfungsrückstand bzw. Harn + Ehrlich's Reagenz:
Orangenrote Verfärbung und Niederschlag.
Die Absorptionskurve der Reaktionslösung (Verdampfungsrückstand) zeigte ein ausgeprägtes Maximum bei 450mμ und ein Minimum bei 390mμ.

b) Verdampfungsrückstand bzw. Harn + Acetylaceton + Ehrlich's Reagenz:
Gelbfärbung, kein Niederschlag. Die Absorptionskurve (Verdampfungsrückstand) zeigte ein ausgeprägtes Maximum bei 450mμ.

B Bestimmung der δ-Aminolävulinsäure neben PAS:

In den beiden Ansätzen ergab sich ein geringer Extinktionsunterschied bei 553mμ. Die Reaktionslösung δ-Aminolävulinsäure + Verdampfungsrückstand, bzw. Harn zeigte eine ganz geringfügige Erhöhung der Extinktion bei 553mμ gegenüber der reinen δ-Aminolävulinsäurelösung. Bei der Absorptionskurve der Reaktionslösung ließen sich die Maxima 555mμ (δ-Aminolävulinsäure) und 450mμ (Verdampfungsrückstand) nebeneinander nachweisen.

C Verhalten der störenden Substanzen an beiden Ionenaustauschern:

Um zu prüfen, ob bei Anwendung der Ionenaustauscher dieser Fehler (Extinktionsunterschied) ausgeschaltet werden kann, wurden 100mg Verdampfungsrückstand auf Dowex 2 gegeben. PAS wurde von Dowex 2 absorbiert. (In den Eluaten konnte mit Ehrlich's Reagenz kein PAS nachgewiesen werden.) Bei der üblichen Bestimmung der δ-Aminolävulinsäure nach Passage von Dowex 2 und Dowex 50 in PAS-haltigem Harn zeigte sich kein Unterschied in der Extinktion bei 553mμ gegenüber der reinen δ-Aminolävulinsäurelösung.

f) Ascorbinsäure (Vit.C):

Stoffwechsel:

Die Möglichkeit einer Speicherung im Organismus ist begrenzt. Die Ausscheidung der Ascorbinsäure erfolgt im wesentlichen im Harn. Sie setzt einen gewissen Schwellenwert im Plasma vorraus, der bei 1,1-1,8mg% liegt. Die tägliche Vit. C Ausscheidung beträgt 0,015-0,05g bei normaler gemischter Kost. Nach Applikation sehr großer Ascorbinsäuremengen findet man im Harn neben unveränderter Ascorbinsäure noch Diketogulonsäure und Oxalsäure als Zeichen dafür, daß ein Teil des Vitamins zerstört wird. In 5-6 Stunden sind 85% der Tagesmenge ausgeschieden (Werle).

Indikation:

Präscorbutische Zustände, Scorbut, gestörtes Allgemeinbefinden, Appetitlosigkeit, Reconvaleszenz, Frühjahrsmüdigkeit, Infektionskrankheiten, Operationsinfektionsprophylaxe, mangelhafte Knochen- und Zahnbildung, Möller-Barlow'sche Erkrankung, schlechte Wundheilung, Zahnfleischblutungen.

[illegible]

Dosierung:

Bis zu [illegible] täglich. Bei akuten Infektionskrankheiten können Dosen von 5-10g und mehr täglich gegeben werden (Rote Liste).

Eigene Versuche:

Es ist bekannt, daß Ascorbinsäure die Farbreaktion zwischen Porphobilinogen und Ehrlich's Reagenz zu stören vermag. (Prunty)
Unter Annahme einer Tagesdosis von 2-4g wurden die Versuche demzufolge mit 1400γ Ascorbinsäure/cm^3 durchgeführt, was einer Tagesausscheidung von rund 2g entspricht.

A Reaktion mit Ehrlich's Reagenz:

a) Ascorbinsäure + Ehrlich's Reagenz:
Keine Verfärbung, kein Niederschlag.

b) Ascorbinsäure + Acetylaceton + Ehrlich's Reagenz:
Keine Verfärbung, kein Niederschlag.

B Bestimmung der δ-Aminolävulinsäure neben Ascorbinsäure:

In den beiden Ansätzen ergab sich kein Extinktionsunterschied bei 553mμ. Die Absorptionskurve der δ-Aminolävulinsäure wird durch den Zusatz von Ascorbinsäure nicht verändert. Die Absorptionskurve zeigte bei beiden Ansätzen völlig gleichartigen Verlauf.

C Verhalten der störenden Substanzen an beiden Ionenaustauschern:

Ascorbinsäure wird von Dowex 2 völlig absor-

biert. In den Eluaten konnte nach Jezler-Niederberger (Hallmann) keine Ascorbinsäure nachgewiesen werden.

g) Phenothiazin:

Stoffwechsel:

Über den Stoffwechsel der Phenothiazine und deren Derivate ist bis jetzt relativ wenig bekannt. Untersuchungen liegen z.B. vor über den Abbau des 2-Chloro-10-(3-dimenthylaminopropyl) phenothiazin-dihydrochlorid (= Chlorpromazin). Dieses wird hauptsächlich in Form seines Sulfoxyds ausgeschieden (Salzman et al.). Dagegen zeigten Versuche mit Trifluoperazindihydrochlorid an Kaninchen, daß dieses Phenothiazin höchstens in nicht nachweisbarer Menge als Sulfoxyd ausgeschieden wird. Etwa 40-50% gelangen unabgebaut in den Harn (Chadwick et al.)

Als Versuchssubstanz verwendeten wir das mit Trifluoperazin chemisch nah verwandte 1-(2-hydroxy-äthyl)-4-3-(2-trifluoromethyl-10-phenothiazinyl)-propyl-piperazindihydrochlorid (Omca), wobei wir die Annahme machten, daß auch diese Verbindung nicht nur beim Kaninchen, sondern auch beim Menschen zu etwa 40-50% in unveränderter Form mit dem Harn ausgeschieden wird.

Indikation:

Vegetative Dystonie in ihren verschiedenen Spielarten:

Neurocirkulatorische Dystonie, Gastrointestinale Störungen, Pelvipathia vegetativa, Dysmenorrhoe, klimakterische Beschwerden.

Psychisch-emotionelle Störungen als Vorläufer oder Ursache der vegetativen Dystonie:

Nervosität, Reizbarkeit, Ruhelosigkeit, Gefühl der Unlust, Apathie, Angst und Spannungszustände (Heyden AG.x)

Eigene Versuche:

Unter Annahme einer Tagesdosis von 300mg (diese Dosierung gilt zwar nicht für Omca, jedoch wird das chemisch gleichfalls nahverwandte 10-(3-dimethylaminopropyl)-2-(trifluoromethyl)-phenothiazinhydrochlorid (=Psyquil) in dieser Menge in der Psychatrie verwendet (Heyden AG.x) und einer Ausscheidungsrate von ungefähr 40-50% der Dosis in nicht abgebauter Form, wurden die Versuche demzufolge mit 100γ Omca/cm^3 durchgeführt, was einer Tagesausscheidung von ca 150mg entspricht.

A Reaktion mit Ehrlich's Reagenz:

a) Omca + Ehrlich's Reagenz:
Keine Verfärbung, kein Niederschlag.

b) Omca + Acetylaceton + Ehrlich's Reagenz:
Keine Verfärbung, kein Niederschlag.

B Bestimmung der δ-Aminolävulinsäure neben Omca:

In den beiden Ansätzen ergab sich kein Extinktionsunterschied bei 553mμ. Die Absorptionskurve der δ-Aminolävulinsäure wird durch den Zusatz von Omca nicht verändert. Die Absorptionskurve zeigte bei beiden Ansätzen völlig gleichartigen Verlauf.

× Chemische Fabrik von Heyden AG., München.

h) Indican (Indoxylschwefelsäure):

Stoffwechsel:

Indican findet sich regelmäßig im Harn. Es bildet sich aus dem in den Eiweißkörpern enthaltenen Tryptophan (=Indolaminopropionsäure) bei der Fäulnis im Darmkanal oder bei putriden Eiterungen zunächst Indol. Diese wird aus dem Darmkanal resorbiert, im Organismus zu Indoxyl oxydiert und im Harn an Schwefelsäure gebunden als indoxylschwefelsaures Kalium ausgeschieden (Müller-Seifert).

Normalwerte im Harn:

4 - 20mg/Tag (Werle)

0 - 32mg/Tag (Hinsberg)

Indicanurie:

findet sich bei Darmkrankheiten mit abnormer Zersetzung der Ingesta, so bei Cholera, Peritonitis, am stärksten bei Darmverschluß, bei Obstipation im Colon ascendens, wo der noch flüssige Darminhalt

beim Verweilen für Fäulniserreger günstige Lebensbedingungen aufweist und die Fäulnisprodukte noch gut resorbiert werden, sowie bei spastischen Obstipationen und auch bei der Urämie. Bei fast allen leichteren Obstipationen und solchen, die auf ein Colonteil beschränkt sind, fehlt eine Indicanvermehrung. Aus der Menge des Indicans im Harn kann man einen Rückschluß ziehen auf die Intensität der Eiweißfäulnisprozesse im Darmkanal (Müller-Seifert).

Eigene Versuche:

Hierbei wurde mit einer zehnfachen Vermehrung der täglichen Indicanausscheidung auf 300mg gerechnet, so daß etwa 200 γ Indican/cm^3 zum Ansatz kamen.

A Reaktion mit Ehrlich's Reagenz:

a) Indican + Ehrlich's Reagenz:
Orangenrote Verfärbung mit einem ausgeprägten Maximum der Absorptionskurve bei 475mμ, einem kleineren Maximum bei 410mμ und einem Minimum bei 425mμ. Kein Niederschlag.

b) Indican + Acetylaceton + Ehrlich's Reagenz:
Orangenrote Verfärbung mit einem ausgeprägten Maximum der Absorptionskurve bei 475mμ, einem kleineren Maximum bei 410mμ und einem

Minimum bei 425mμ. Kein Niederschlag.

B Bestimmung der δ-Aminolävulinsäure neben Indican:

In den beiden Ansätzen ergab sich ein erheblicher Extinktionsunterschied bei 553mμ. Die Reaktionslösung δ-Aminolävulinsäure + Indican zeigte eine Verminderung in der Extinktion um ca. 0,10 (= ca 25%) gegenüber der reinen δ-Aminolävulinsäurelösung, was ca 8γ δ-Aminolävulinsäure auf der Eichkurve entspricht. Auf der Absorptionskurve der Reaktionslösung (Bb) ließ sich eine Schulter bei 555mμ (δ-Aminolävulinsäure) nachweisen neben einem Maximum bei 475mμ (Indican).

C Verhalten der störenden Substanzen an beiden Ionenaustauschern:

Um zu prüfen, ob bei Anwendung der Ionenaustauscher dieser Fehler ausgeschaltet werden kann, wurden 1000γ Indican auf Dowex 2 gegeben. Indican wurde an Dowex 2 absorbiert. In den Eluaten konnte mit Ehrlich's Reagenz kein Indican nachgewiesen werden. In Übereinstimmung damit zeigte sich bei der Bestimmung der δ-Aminolävulinsäure nach Passage von Dowex 2 in beiden Ansätzen kein

Extinktionsunterschied bei 553mμ. Die Absorptionskurve zeigte bei beiden Ansätzen völlig gleichartigen Verlauf.

i) 5-Hydroxyindolylessigsäure:[+)]

Ausscheidung:

5-Hydroxyindolylessigsäure wird unter normalen Bedingungen in einer Tagesmenge von 2-9mg ausgeschieden. Beim Karzinoid kommt es zu einer vermehrten Ausscheidung. Werte über 12mg/Tag sollen verdächtig, solche über 25mg/Tag beweisend für das Karzinoidsyndrom sein (Gjessing). Es finden sich hier Werte bis 680mg/Tag, in seltenen Fällen bis 1500mg/Tag (Sörensen et al.).

Die 5-Hydroxyindolylessigsäure ist hier ein Abbauprodukt des vermehrt gebildeten Serotonins. Es muß allerdings beachtet werden, daß gewisse Früchte, speziell Bananen, Walnüsse, Ananas und Tomaten reich an Serotonin sind, so daß nach Genuß größerer Mengen derselben eine pathologische Erhöhung der Ausscheidung von 5-Hydroxyindolylessigsäure vorgetäuscht werden kann (Waalkes et al.).

Nachweismethode mit Ehrlich's Reagenz (Hanson-Serinprobe):

Gleiche Teile von Urin und Ehrlich's Reagenz ergeben Blaufärbung (Sörensen et al.). (Quantitativer Nachweis der 5-Hydroxyindolylessigsäure mittels Papierchromatographie: Gjessing!)

Eigene Versuche:

Hierbei wurde mit einer Ausscheidung von 750mg bzw. 2100mg/Tag gerechnet, so daß etwa 500γ bzw. 1400γ 5-Hydroxyindolylessigsäure/cm^3 zum Ansatz kamen.

A Reaktion mit Ehrlich's Reagenz:

a) 5-Hydroxyindolylessigsäure + Ehrlich's Reagenz:
Violette Verfärbung, mit zwei Maxima der Absorptionskurve bei 553mμ und 580mμ.
Kein Niederschlag.

b) 5-Hydroxyindolylessigsäure + Acetylaceton + Ehrlich's Reagenz:
Zart-violette Verfärbung, mit zwei Maxima der Absorptionskurve bei 553mμ und 580mμ.
Kein Niederschlag.

B Bestimmung der δ-Aminolävulinsäure neben 5-Hydroxyindolylessigsäure:

In den beiden Ansätzen ergab sich erstaunlicherweise kein Extinktionsunterschied bei 553mμ. Bei spektrophotographischer Untersuchung der Reaktionslösung im sichtbaren Bereich zeigte sich jedoch ein stark verbreiterter plumper Kurvenzug mit einem Gipfel bei 555mμ (δ-Aminolävulinsäure und 5-Hydroxyindolylessigsäure). Bei 576mμ war eine Schulter zu erkennen (1. Maximum der 5-Hydroxyindolylessigsäure).

Verhalten der störenden Substanzen an beiden Ionenaustauschern:

Durch Versuche am Ionenaustauscher Dowex 2 zeigte es sich, daß 5-Hydroxyindolylessigsäure in einer Menge von 1400γ/cm^3 von Dowex 2 absorbiert wird. Sie konnte mit Ehrlich's Reagenz im Eluat nicht nachgewiesen werden.
Bei der Bestimmung der δ-Aminolävulinsäure nach Passage von Dowex 2 zeigte sich in beiden Ansätzen kein Extinktionsunterschied. Die Absorptionskurve zeigte bei beiden Ansätzen völlig gleichartigen Verlauf.

) Für die Überlassung der 5-Hydroxyindolylessigsäure danken wir der Firma Hoffmann-La Roche, Grenzach (Baden).

III. Diskussion und Zusammenfassung

B.Haeger-Aronsen fand 1960 als erster, daß bei einem großen Prozentsatz (ca. 65%) von Bleiarbeitern, die keine klinischen Zeichen einer erhöhten Bleiresorption aufwiesen, eine deutlich vermehrte Ausscheidung von δ-Aminolävulinsäure im Harn auftrat.
Dieser Befund wurde später von mehreren Autoren bestätigt. Durch zahlreiche Untersuchungen wurde weiter festgestellt, daß in mehreren Fällen von Vergiftungen, sowie bei den verschiedensten Krankheiten, insbesondere Blut-, Leber- und Stoffwechselerkrankungen, mit Ausnahme der akuten Porphyrie und einiger Anämieformen (Heilmeyer u. Clotten) keine vermehrte Ausscheidung von δ-Aminolävulinsäure im Harn vorkommt.
Die Diagnose der Bleivergiftung wurde bisher durch die klinischen Erscheinungen, sowie insbesondere durch die Höhe des Blut- und Harnbleispiegels gestellt, über dessen Normalwert jedoch uneinheitliche Ansichten herrschen. Eine zusätzliche Prüfung der

δ-Aminolävulinsäure-Ausscheidung könnte die Diagnose Bleivergiftung sichern helfen.
Als Bestimmungsverfahren für δ-Aminolävulinsäure im Harn wird allgemein das Verfahren von Mauzerall u. Granick angewandt. Dabei wird δ-Aminolävulinsäure durch Kondensation mit Acetylaceton in ein Pyrrol umgewandelt, das mit p-Dimethylaminobenzaldehyd (Ehrlich's Reagenz) eine rote Farbreaktion liefert und so spektrophotometrisch bestimmt werden kann.

Die beginnende und noch unerkannte Bleivergiftung mit ihrer breiten Skala unspezifischer Symptome kann den Patienten leicht zur Einnahme der verschiedensten Medikamente führen. Da von einer großen Anzahl von Medikamenten, aber auch körpereigenen Stoffwechselprodukten eine positive Reaktion mit Ehrlich's Reagenz möglich ist, war zu prüfen, ob die Bestimmung der δ-Aminolävulinsäure im Harn durch die Anwesenheit von Medikamenten, deren Stoffwechselprodukten oder durch erhöhte Ausscheidung körpereigener Substanzen gestört werden kann.
Hierzu wurden diejenigen Naturstoffe, Stoffwechselprodukte und Medikamente zusammengestellt, von denen eine positive Farbreaktion mit Ehrlich's Reagenz bekannt ist und bei denen infolgedessen eine Stör-

Möglichkeit für die Bestimmung der δ-Aminolävulinsäure gegeben ist.

Mit einigen typischen Vertretern der gefundenen Substanzen: -ß-Aminoisobuttersäure, Tryptophan, Indican, 5-Hydroxyindolylessigsäure, Natriumcitrat, Aristamid, PAS, Ascorbinsäure, Omca, 4-Aminoantipyrin - wurde experimentell der Einfluß auf das Bestimmungsverfahren geprüft.

Dabei zeigte sich, daß die von Mauzerall u. Granick angegebene Methode mit Reinigung der δ-Aminolävulinsäure über zwei verschiedene Ionen-Austauscher so angelegt ist, daß störende Substanzen vor Durchführung der kolometrischen Bestimmung eliminiert werden.

Als Ergebnis der Untersuchung kann festgehalten werden, daß das Bestimmungsverfahren nach Mauzerall u. Granick für δ-Aminolävulinsäure sehr zuverlässig arbeitet und damit einen Fortschritt in der Diagnostik der Bleivergiftung darstellt.

IV. Literaturverzeichnis

1. Bickel,H. und Souchon,F.
Aminoacidurie bei Bleivergiftung.
Arch.Kinderh.,Beiheft 31,101 (1955)

2. Borbély,F.
Fehldiagnosen bei Bleivergiftung.
Praxis Bern 50, 813-817 (1961)

3. Chadwick,B.T. and Wilkinson,I.H.
The Effects of Phenothiazine Drugs On The Determination Of Urinary 5-Hydroxyindolyl-acetic Acid.
Clin.Chim.Acta 5, 879-886 (1960)

4. Chisolm,J.J.Jr., Harrison,H.C., Eberlein, W.R. and Harrison, H.E.
Amino-Aciduria, Hypophosphatemia And Rickets In Lead Poisoning.
Amer.J.Dis.Child. 89,159 (1955)

5. Clarkson,T.W. and Kench,J.E.
Urinary Excretion Of Amino Acids By Men Absorbing Heavy Metals.
Biochem.J.,Lond. 62,361 (1956)

6. Dagliesh,C.E.
The Relation Between Pyridoxin And Tryptophan Metabolism, Studied In The Rat.
Biochem.J.,Lond. 52,4 (1952)

7. Fink,K., Henderson,R.B. and Fink,R.M.
ß-Aminoisobutyric Acid, A Possible Factor In Pyrimidine Metabolism.
Proc.Soc.Exptl.Biol.Med. 78,133 (1951)

8. Geigy,J.R.
Wissenschaftliche Tabellen, 1953.
J.R.Geigy A.G., Basel

9. Gjessing,L.
Kvantitatio kemisk diagnose av Phaeochromocytom, Neuroblastom, Carcinoidsyndrom og Føllings Syndrom.
T.norske Laegeforen 81,1209 (1961)

10. Griggs,R.C. and Harris,J.W.
Erythrocyte Survival And Heme Synthesis In Lead Poisoning.
Clin.Res. 6,188 (1958)

11. Haeger,B.
Increased Content Of δ-Aminolaevulic Acid-Like Substance In Urine From Workers In Lead Industry.
Scand.J.Clin.Lab.Invest. 9,211 (1957)

12. Haeger-Aronsen,B.
Studies On Urinary Excretion Of δ-Aminolaevulic Acid And Other Haem Precursors In Lead Workers And Lead Intoxicated Rabbits.
Scand.J.Clin.Lab.Invest. 12,47 (1960)

13. Hais,I.M. und Macek,K.
Handbuch der Papierchromatographie, Bd.I
VEB. Gustav Fischer Verlag, Jena 1958

14. Halberkann,J. und Freyburger,E.
Die Stoffwechselprodukte des Pyramidons und
verwandter Verbindungen beim Menschen.
Hoppe-Seylers Z.Physiol.Chem. 241,97 (1936)

15. [illegible]
[illegible] Chemie und Mikroskopie, 1.Aufl.
[illegible], Stuttgart 19[illegible]

16. [illegible]
[illegible]
[illegible]
Arch.[illegible]. [illegible]. [illegible] ([illegible])

17. [illegible]
[illegible]
Ausscheidungen. z.anorm. in
[illegible] Chemischen Analyse von Hoppe-Seyler/Thierfelder
Zehnte Auflage, Bd.V, Springer Verlag,
Berlin-Gottingen-Heidelberg 1953

18. Neubauer,O.
Bleispiegelwerte im Blut bei gesunden
[illegible] einer Bleifarbenfabrik.
Med.Welt, 51, 2087-2090 (1961)

19. Kawamata,J. and Kashiwagi,K,
Studies On The Metabolism Of
Para-Aminosalicylic Acid.
Med.J.Osaka Univ. 6,119 (1955)

20. Kehoe,R.A., Thamann,F. and Cholak,J.
Normal Absorption And Excretion Of Lead.
J.Am.Ass. 104,90 (1935)

21. Kissin,B. and Owen Locks,M.
Urinary Citrates In Calcium Urolithiasis.
Proc.Soc.Expl.Biol.Med. 46, 216-218 (1941)

22. Lachnit,V.
Bleivergiftung. In
Handbuch der gesamten Arbeitsmedizin von
Ernst W. Baader, Bd.II: Berufskrankheiten,
1.Teilband, Urban & Schwarzenberg Verlag
Berlin-München-Wien 1961

23. Lepehne,G.M.
Use Of The Urobilinogen Test For The Detection
Of Para-Aminosalicylic Acid In The Urine.
New.Engl.J.Med. 261, 909-910 (1959)

24. Litzner,St.
cit. nach Hoschek,R.
Bleispiegelwerte im Blut bei gesunden
Arbeitern einer Bleifarbenfabrik.
Med.Welt, 51, 2687-2690 (1961)

25. Mauzerall,D. and Granick,S.
The Occurence And Determination Of
δ-Aminolaevulic Acid And Porphobilinogen
In Urine.
J.Biol.Chem. 219,435 (1956)

26. Moeschlin,S.
Klinik und Therapie der Vergiftungen.
Georg Thieme Verlag, Stuttgart 1952 und 1959

27. Müller-Seifert
Taschenbuch der Medizinisch-Klinischen
Diagnostik.
Verlag von J.F.Bergmann, München 1942

28. Portheine,F.
Zur Frage des quantitativen Bleinachweises
im Blut.
Klin.Wschr. 30, Heft 3/4, 83-85 (1952)

29. Prior,J.A. and Salslaw,S.
cit. nach Williams Tecwyn,R.
Detoxication Mechanism.
Chapman and Hall LTD, London 1959

30. Prunty,F.T.G.
Acute Porphyria. Some Properties Of
Porphobilinogen.
Biochem.J.,Lond. 39,446 (1945)

31. Rote Liste

Verzeichnis pharmazeutischer Spezialpräparate.

Herausgeber: Bundesverband der Pharmazeutischen Industrie e.V. Frankfurt a.M.

Editio Cantor-Aulendorf/Württenberg

32. Salzman,N.P. and Brodie,B.B.

Physiological Disposition And Fate Of Chlorpromazine And A Method For Its Estimation In Biological Material.

J.Pharmacol.Exptl.Therap. 118,46 (1956)

33. Schmidt,Ga.

Papierchromatographische Vorprobe bei der toxikologischen Harnanalyse.

Dtsch.Zschr.f.ger.Med. 49, 259-280 (1959)

34. Schrader,G.

Der quantitative Bleinachweis im Trinkwasser und im Blut.

Klin.Wschr. 28, Heft 43/44, 759 (1950)

35. Schwartz,S.

cit. nach Haeger-Aronsen,B.

Studies Of Urinary Excretion Of δ-Aminolaevulic Acid And Other Haem Precursors In Lead Workers And Lead Intoxicated Rabbits.

Scand.J.Clin.Lab.Invest. 12 (1960)

36. Seifert,P.
Bleivergiftung und Laboratoriumsbefunde.
Zbl.Arb.Med. 1,5,99-102 (1951)

37. Shorr,E., Almy,T.P., Sloan,M.H., Taussky,H. and Toscani,V.
The Relation Between The Urinary Excretion Of Citric Acid And Calcium; Its Implications For Urinary Calcium Stone Formation.
Science 96, 587 (1942)

38. Shuster,L.
The Determination Of δ-Aminolaevulic Acid.
Biochem.J.,Lond. 64,101 (1956)

39. Siedel,W.
Gallenfarbstoffe. In
Lehr- und Handbuch für Ärzte und Biologen und Chemiker von B.Flaschenträger und E.Lehnartz,
Erster Band, Springer Verlag,
Berlin-Göttingen-Heidelberg 1951

40. Sörensen,E.W. Simonsen,H.
Carcinoidose Kasuistik meddelese.
T. norske Laegeforen 81, 549 (1961)

41. Stich,W.
δ-Aminolävulinacidurie. Ein neues biochemisches und diagnostisches Kriterium der Bleivergiftung.
Klin.Wschr. 39, 338 (1961)

42. Strell,M. und Reindl,S.
Ein rein spektrophotometrischer Nachweis für 4-Aminoantipyrin als physiologisches Abbauprodukt im Harn.
Arzneimittelforschung, Sonderdruck 11, 552-554 (1961)

43. Taubitz,E. und Schweisfurth,R.
Über den bakteriellen Abbau der Citronensäure im Urin und dessen Einfluß auf die Calciumsalz-Ausfällung in vitro.
Klin.Wschr. 39, 1256-1260 (1961)

44. Teillmann,K.
cit. nach Hodchek,R.
Bleispiegelwerte im Blut bei gesunden Arbeitern einer Bleifarbenfabrik.
Med.Welt 51, 2687-2690 (1961)

45. Treibs,A. und Herrmann,E.
Über die Ehrlich'sche Reaktion der Pyrrole und Indole.
Z.Physiol.Chem. 299, 171 (1955)

46. Viglani,E.C.
cit. nach Hodchek,R.
Bleispiegelwerte im Blut bei gesunden Arbeitern einer Bleifarbenfabrik.
Med.Welt 51, 2687-2690 (1961)

47. Waalkes,T.P., Sjoerdsma,A., Creveling,C.R.
Weissbach,H. and Udenfried,S.
Serotonin, Norepinephrine, And Related
Compounds In Bananas.
Science 127, 684 (1958)

48. Way,E.L., Smith,P.K., Howie,D.L.
Weiss,R. and Swanson,R.
The Absorption, Distribution, Excretion And
Fate Of Para-Aminosalicylic Acid.
J.Pharmacol. 93, 368 (1948)

49. [illegible],E. Neugebauer,G. und Neugebauer,J.
Polarographische Beibestimmung in Blut und
Harn. (zugleich ein Beitrag zur Frage des
normalen Blutbleigehaltes.)
Arch.f.Hyg.u.Bact. 139, 551-564 (1955)

50. Werle,E.
Niere und Harn. In
Physiologische Chemie. Ein Lehr- und Hand-
buch für Ärzte, Biologen und Chemiker von
B.Flaschenträger und E.Lehnartz,
Bd.II, Teil II, Bandteil b: 83,178.
Springer Verlag,
Berlin-Göttingen-Heidelberg 1957

51. Williams Tecwyn,R.
Detoxication Mechanism.
Chapman and Hall LTD, London 1959

52. Wilson,V.K., Thomson,M.L. and Dent,C.E.
Amino-Aciduria In Lead Poisoning. A Case In Childhood.
Lancet 2, 66, London 1953

Zum Schluß der Arbeit erlaube ich mir, Herrn Professor Dr.Dr. E.Weinig für die Überlassung des Themas meinen verbindlichen Dank auszusprechen.
Mein ganz besonderer Dank gilt Frau Dr.Dr. M.Geldmacher-Mallinckrodt für die zahlreichen Anregungen und für die Unterstützung bei der Durchführung der Arbeit.

Lebenslauf.

Ich, Helga Brigitte Denkler, Tochter des praktischen Arztes Dr. Friedrichkarl Denkler und seiner Ehefrau Marie Denkler, geborene Würsching, wurde am 29. Juni 1934 in Nürnberg geboren. 1940 trat ich in die Volksschule in Nürnberg ein. Von 1945 bis 1950 besuchte ich die Städtische Oberschule in Nürnberg. Anschließend wechselte ich in das Realgymnasium der Wilhelm-Löhe-Schule-Nürnberg über, wo ich 1954 die Reifeprüfung ablegte. Im Herbst 1954 begann ich das Studium der Medizin an der Friedrich-Alexander-Universität zu Erlangen, wo ich nach sechs Semestern im Sommer 1957 das Physikum ablegte. Nach dem ersten klinischen Semester in Erlangen hörte ich zwei weitere Semester in München an der Ludwig-Maximilians-Universität. Nach vier weiteren Semestern in Erlangen, legte ich dort im Frühjahr 1961 das Staatsexamen ab. Von November 1961 bis Juni 1962 war ich am Institut für gerichtliche Medizin und Kriminalistik der Universität Erlangen-Nürnberg als Medizinalassistentin tätig. Dort arbeitete ich auch an meiner Dissertationsarbeit. Seit Juli 1962 bin ich (Juli-Dezember auf der chirurgischen-, anschließend auf der medizinischen Abteilung) als Medizinalassistentin am Stadtkrankenhaus Furth (Bayern) tätig.

GEDRUCKT BEI LUDWIG MÜLLER ERLANGEN